

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
20 décembre 2001 (20.12.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/96019 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : B01L 3/02,
B01J 19/00, B01L 3/00

(71) Déposant et

(72) Inventeur : HOUMMADY, Moussa [FR/FR]; 16bis, rue
de Vésoul, F-25000 Besançon (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR01/01873

(74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; Cabinet Ores, 6, avenue
de Messine, F-75008 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international : 15 juin 2001 (15.06.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

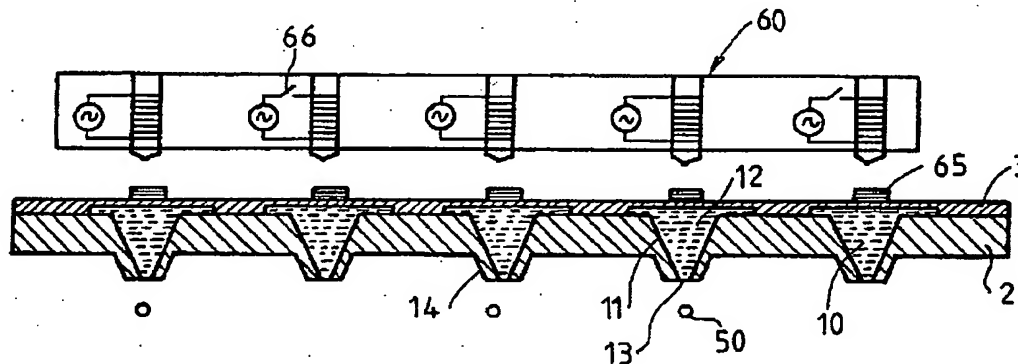
(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
2,311,622 15 juin 2000 (15.06.2000) CA

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: HIGH-PERFORMANCE SYSTEM FOR PARALLEL AND SELECTIVE DISPENSING OF MICRO-DROPLETS

(54) Titre : SYSTÈME DE DISTRIBUTION PARALLÈLE ET SELECTIVE DE MICRO-GOUTTELETTES A HAUT RENDEMENT



(57) Abstract: The invention concerns a method for significantly increasing the performance of selective dispensing of micro-droplets, for producing spatial and targeted selectivity by dispensing a predetermined reagent on a predetermined site, and in providing an easily adaptable multifunctional system. One embodiment of the inventive system comprises a substrate (2) covered with a diaphragm (3) and means for deforming (65) the diaphragm perpendicular to each cavity formed in the substrate, and wherein the cavities, etched in a material forming the substrate (2) according to a matrix-type arrangement, are in the form of wells (10) passing through the substrate with axially symmetrical continuous side walls (11); each well emerges onto an upper surface and a lower surface of the substrate respectively as a feeding orifice (12) and a discharge orifice (14), the feeding orifice having an opening substantially greater than the nozzle orifice (13).

(57) Abrégé : L'invention vise à permettre une augmentation considérable du rendement de distribution sélective de micro-gouttelettes, à réaliser une sélectivité spatiale et ciblée en distribuant un réactif prédéterminé sur le site prédéterminé, et à réaliser un système multifonctionnel et facile à adapter. Un exemple de système de distribution selon l'invention comporte un substrat (2) recouvert d'une membrane (3) et des moyens de déformation (65) de la membrane au droit de chaque cavité

[Suite sur la page suivante]

BEST AVAILABLE COPY



(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

formée dans le substrat, et dans lequel les cavités, gravées dans un matériau constituant le substrat (2) selon un arrangement matriciel, se présentent sous forme de puits (10) traversant le substrat avec des parois latérales continues (11) de symétrie axiale; chaque puits débouche sur la face supérieure et la face inférieure du substrat selon respectivement un orifice d'alimentation (12) et une buse d'éjection (14), l'orifice d'alimentation présentant une ouverture sensiblement supérieure à l'orifice (13) de la buse.

SYSTEME DE DISTRIBUTION PARALLELE ET SELECTIVE DE MICRO-GOUTTELETTES A HAUT RENDEMENT

5 L'invention concerne un système de distribution parallèle et sélective, à haut rendement, de micro-gouttelettes de volume extrêmement réduit -de l'ordre d'un sous-multiple de nano-litre, voire d'un sous-multiple de pico-litre-, des cartouches transportables et un kit pour mettre en œuvre une telle distribution, ainsi que les applications de ce système, notamment dans
10 les domaines de la chimie, de la biologie, de la biotechnologie ou de la pharmacie, -en particulier pour la réalisation de bio-puces, pour des tests pharmaceutiques, immunologiques ou biochimiques, pour le criblage de chimiothèques ou de sérothèques, la préparation de médicaments ou leur administration percutanée par iono-phorèse, ou encore dans les domaines de
15 la cosmétique, pour la réalisation de diffuseurs de parfums ou d'aérosols, de l'impression par jet d'encre ou de l'électronique automobile, en particulier dans les injecteurs de carburant ou de gas-oils.

Les récents progrès en matière de recherche génomique et protéomique permettent de disposer d'un nombre considérable de molécules
20 biologiques et thérapeutiques à tester. Cependant, les faibles quantités de produits biochimiques disponibles ainsi que leur coût élevé ont conduit à rechercher une augmentation sensible des capacités d'expérimentation par optimisation du rendement.

Pour ce faire, différentes techniques ont été appliquées à la
25 manipulation de liquides biochimiques, tels que les systèmes de repiquage ou de micro-pipetage avec des actionneurs piézoélectriques et, plus récemment, la technique d'impression par jet d'encre.

Le but de ces technologies est la préparation de bio-puces par l'impression de sondes biologiques (d'oligonucléotides, protéines, peptides, etc..), pré-synthétisées dans la majorité des cas, sur une surface de différents
30 types de support, tels que verre, nylon® ou cellulose®.

Il est par exemple connu des documents US 5,053,100 ou US 6,083,762, des pipetages qui utilisent un actionneur piézoélectrique sur une micro-pipette. Cette technique permet l'impression d'oligonucléotides pré-synthétisés ou synthétisés in situ. Cependant, ces systèmes sont fabriqués à l'unité et sont inaptes à la distribution parallèle à haute densité.

Dans le document US 6,028,189, la distribution de réactifs est effectuée par l'utilisation de micro-pompes de type à jet d'encre, activées par un actionneur piézoélectrique. Chaque micro-pompe est réalisée dans un bloc de silicium, avec des canaux d'alimentation et d'éjection des gouttelettes. Afin de réaliser des synthèses in situ, quatre micro-pompes délivrent des bases d'ADN par éjection dans des puits circulaires, formés sur un substrat de verre commandé en déplacement selon deux axes.

Ces systèmes ne permettent pas de réaliser une impression à très haut rendement au sens de la présente invention, c'est-à-dire quelques centaines à quelques milliers de gouttes par cm^2 : avec quatre pompes opérant à quelques centaines de Hz, une machine selon le document précédent imprimerait 100 000 gouttes en quelques centaines de secondes. La synthèse de sondes de 25 oligonucléotides nécessiterait alors plus de 2 heures.

L'invention vise à permettre une augmentation considérable du rendement de distribution sélective de micro-gouttelettes, par une forte augmentation de la densité d'impressions parallèles, comparable aux densités obtenues par la photochimie pour l'immobilisation de molécules spécifiques à travers des masques de photolithographie. Cette méthode est limitée aux molécules pouvant être fixées par photochimie et ne permet fondamentalement pas de manipuler individuellement des gouttelettes de réactifs. De plus, la synthèse in situ, par cette méthode, est limitée à environ 25 mononucléotides.

Un autre but de l'invention est de permettre de réaliser une sélectivité non seulement spatiale, en permettant de distribuer le réactif sur

des sites prédéterminés ou programmés, mais également ciblée en distribuant un réactif sélectionné parmi plusieurs sur le site prédéterminé.

L'invention vise également à réaliser un système multifonctionnel et facile à adapter sous différentes formes, par exemple sous
5 forme de kits miniatures d'analyse biologique ou biochimique pour permettre un grand nombre d'applications. En particulier, l'invention permet de ne pas se limiter à la synthèse de 25 nucléotides par sonde mais de synthétiser des sondes longues pouvant atteindre, par exemple, 70 nucléotides, tout en conservant un rendement élevé.

10 Ces buts sont atteints en utilisant une tête d'impression dans laquelle est réalisée, par des techniques de type microélectroniques à haute densité, une matrice de puits de forme particulière et alimentés suivant une connectique spécifique pour une distribution sélective à haut débit.

Plus précisément, l'invention a pour objet un système de
15 distribution de micro-gouttelettes à haut rendement, comportant un substrat recouvert d'une membrane et des moyens de déformation de la membrane au droit de chaque cavité formée dans le substrat, et dans lequel les cavités, gravées dans un matériau constituant le substrat, se présentent sous forme de puits traversant le substrat avec une paroi latérale continue de symétrie axiale;
20 chaque puits débouche sur la face supérieure et la face inférieure du substrat selon respectivement un orifice d'alimentation et une buse ouverte selon un orifice d'éjection, l'orifice d'alimentation présentant une ouverture supérieure à l'orifice de la buse et la buse présentant un rapport de forme de l'ordre de 1 à 20.

25 Selon l'invention, il convient de comprendre par distribution l'éjection ou l'aspiration de micro-gouttelettes, par haut rendement de quelques dizaines à quelques milliers de micro-gouttelettes distribuées parallèlement en une fraction de seconde, par paroi à symétrie axiale une paroi de révolution ou cylindrique, par exemple de section carrée, et par
30 rapport de forme le rapport entre la hauteur et l'ouverture de la buse de sortie.

Pour atteindre ce type de rendement, le substrat présente une densité de puits pouvant atteindre 10 000 par cm^2 , avec un débit pouvant dépasser 1 million de gouttelettes à la seconde.

Avantageusement, le matériau du substrat est choisi parmi les
5 matériaux semi-conducteurs tels que le silicium, l'arséniure de gallium, le carbure de silicium, le germanium, les composites d'oxydes et d'isolant (tels que le SOI, initiales de silicium-oyde-isolant), les verres, les nitrures de silicium, le polysilicium, les céramiques, les matériaux thermoplastiques, -tels
10 que le polyméthacrylate de méthyle, les polycarbonates, le polytetrafluoroéthylène, le chlorure de polyvinyle ou le polydiméthylsiloxane, les résines photosensibles épaisses (par exemple la résine « SU8 »)-, ainsi que les métaux, tels que le tungstène ou les aciers inoxydables.

De manière préférée, les techniques de micro-fabrication pour réaliser les puits ou les micro-canaux sont choisies en fonction du matériau du
15 substrat :

- gravures chimiques humides ou sèches telles que la gravure ionique réactive (en abrégé RIE) ou la gravure profonde (en abrégé D-RIE) pour le silicium et verre ;
- gravure par électroérosion ou électroformage pour les
20 métaux ;
- moulage et polymérisation pour les matériaux thermoplastiques ;
- photolithographie, découpage au laser, ultrasons, ou par projection d'abrasifs pour la plupart des substrats.

25 Selon des modes préférés, le matériau de la membrane est choisi entre le verre, le silicium, les élastomères et les matériaux thermoplastiques; la membrane peut être gravée par les techniques de gravure citées plus haut, afin de réaliser un réseau de micro-canaux d'alimentation des puits, ces micro-canaux étant couplés en extrémité à au
30 moins un réservoir d'alimentation en réactif.

Dans des modes de réalisation particuliers, les moyens de déformation locale de la membrane sont constitués par des actionneurs électromagnétiques, magnétostrictifs ou piézoélectriques. Des moyens alternatifs sont également prévus tels que les moyens thermiques de type jet d'encre ou thermoélastiques par effet de type bilame, l'électro-vaporisation produit par un champ électrique localisé entre chaque puits, ou encore des actionneurs électrostatiques.

L'ensemble des moyens de déformation peut être géré par une unité de commande programmable à travers un réseau de multiplexage. Une telle unité permet de déclencher simultanément ou successivement l'aspiration ou la distribution de réactifs identiques ou différents à travers tous les puits, à travers des blocs de puits ou certains puits.

Selon des modes de réalisation particuliers, la tête d'impression possède quatre ou un multiple de quatre lignes et un nombre de colonnes de puits adapté à la densité souhaitée, afin de procéder à la synthèse de sondes d'ADN à partir des quatre monomères de base des nucléotides pour la préparation de bio-puces. Les puits de chaque ligne sont alimentés par un même réservoir à travers un micro-canal formé dans la membrane parallèlement à la ligne de puits et couplé latéralement à la ligne ou orthogonalement au plan du substrat, les réservoirs étant gravés dans la membrane ou disposés à distance et reliés aux micro-canaux par des connexions souples.

L'invention concerne également les applications de la tête d'impression définie ci-dessus. Pour mettre en œuvre au moins certaines d'entre elles, il est avantageux de préparer un ensemble prêt à l'emploi sous forme de :

- cartouche de distribution comprenant au moins une tête d'impression préremplie de réactifs et de plaquettes de titration en matériau semi-conducteur ou thermoplastique, pouvant présenter des micro-cuvettes formées par gravure de type micro-électronique, par usinage, par moulage, par thermoformage, ou toute technique adaptée à une telle fabrication ;

- kit de distribution comprenant au moins une tête d'impression, pouvant être équipée d'au moins une pompe d'aspiration, et au moins une plaquette de Titration, préremplies ou non de réactif.

Ces cartouches ou ces kits sont plus particulièrement
5 destiné(e)s à la préparation de bio-puces, par synthèse in situ ou dépôt d'oligonucléotides pré-synthétisés, au criblage collectif ou individuel sur molécules biologiques ou sur cellules, à la préparation de médicaments ou aux tests pharmaceutiques ou de dépistage immunologique, biochimiques et biologiques.

10 L'administration percutanée de médicaments par iono-phorèse peut être réalisée à partir d'une tête d'impression définie précédemment comportant un plusieurs puits. Un système d'application d'une différence de potentiel adéquate sur une cellule piézoélectrique, ou tout moyen de déclenchement électromagnétique, forme un dispositif d'administration d'une
15 quantité calibrée d'au moins un médicament contenu ou formé dans ce puits.

Outre les applications citées plus haut, l'invention peut également être utilisée pour la séparation et le tri, par exemple en chromatographie par filtration sélective. Sur les parois des puits d'une tête d'impression selon l'invention sont d'abord fixées, greffées, bloquées ou
20 accrochées, par tout moyen connu, des bio-cellules identiques ou différentes par puits ou par blocs de puits. La tête d'impression peut être intégrée à l'embout d'une seringue.

D'autres caractéristiques, avantages et applications apparaîtront également dans la suite de la description qui détaille, plus
25 particulièrement, des exemples de mise en œuvre non limitatifs de la présente invention, en référence aux figures annexées qui représentent, respectivement :

- la figure 1, une vue schématique partielle en perspective d'une tête de distribution limitée à l'environnement d'un puits de base d'un
30 système selon l'invention ;

- la figure 2, une vue en coupe selon II-II de la tête selon la figure 1 avec un réservoir de remplissage ;
- la figure 3, une vue schématique en perspective d'une tête de distribution d'un système selon l'invention à huit puits de distribution ;
- 5 - la figure 4, une vue en coupe selon IV-IV de la figure précédente ;
- la figure 5, une vue schématique en perspective d'une tête de distribution d'un système selon l'invention à seize puits de distribution ;
- la figure 6, une vue en coupe selon V-V de la figure
- 10 précédente ;
- les figures 7 et 8, deux vues cavalières de la face inférieure de la tête de distribution du système selon la figure 5 et selon une variante ;
- la figure 9, une vue en perspective du système selon la figure 5 avec des moyens de distribution d'un réactif à distance ;
- 15 - la figure 10, une vue en perspective du système selon la figure 5 avec des moyens de distribution à distance de quatre mononucléides pour former des sondes sur une lame mobile ;
- la figure 11, une vue en coupe schématique d'un système de distribution selon l'invention illustrant le principe d'actionnement sélectif des
- 20 puits de distribution ;
- les figures 12a et 12b, des vues en coupe illustrant les deux phases d'actionnement d'un puits par des moyens électromagnétiques de déclenchement sélectif ;
- les figures 13a et 13b, une vue en coupe d'un système de
- 25 distribution selon l'invention, illustrant l'actionnement sélectif respectivement par des moyens électromagnétiques et des moyens piézoélectriques de déclenchement sélectif ;
- la figure 14, une vue en coupe d'une tête de distribution en phase de remplissage par aspiration de réactifs pour la préparation d'une
- 30 cartouche de distribution selon l'invention ;

- la figure 15, une vue en coupe d'un système de distribution selon l'invention appliqué au traitement de cellules sur une plaquette de titration ;

5 - la figure 16, une vue en coupe d'un système de distribution selon l'invention appliqué à la détection d'hybridation dans le cadre d'un test génétique;

- la figure 17, une vue en coupe d'un système de distribution selon l'invention appliquée à l'administration percutanée de médicaments.

10 Sur toutes les figures, des signes de référence identiques désignent des éléments identiques ou techniquement équivalents. Les membranes apparaissent en transparence afin de faciliter la visualisation de l'ensemble des éléments représentés.

Un exemple de tête de distribution 1 est illustré en figure 1, telle que limitée à son environnement autour d'un puits de distribution 10.
15 Chaque puits 10 a été gravé par photolithographie suivie d'une gravure humide chimique dans un substrat de silicium 2 recouvert d'une membrane 3 en pyrex[®], la membrane et le substrat sont assemblés par soudure anodique pour former la tête 1.

20 Le puits 10 possède une forme pyramidale inversée, et traverse de part en part le substrat de silicium 2 selon quatre parois continûment inclinées 11 et définies par les plans cristallins 1-1-1 du silicium. L'ouverture supérieure 12 du puits, qui communique avec la membrane 3, forme un carré de côté supérieur au côté de l'orifice inférieure 13 afin d'accélérer l'éjection des gouttelettes. Un micro-canal 20 d'alimentation ou
25 d'évacuation du puits en réactif est usiné dans la membrane 3.

Dans cet exemple de réalisation, les dimensions de puits sont les suivantes :

- côté de l'ouverture supérieure: 500µm
- côté de l'orifice inférieur: entre 10 et 50 µm (environ 30 µm)
- épaisseur de la membrane : 10 à 50 µm
- épaisseur du substrat : 360 µm

En vue en coupe selon la figure 2 selon II-II, il apparaît que le micro-canal 13 communique avec un réservoir d'alimentation ou de stockage 4 de réactif 5. Il est également montré sur cette vue que la face inférieure 2i sensiblement plane du substrat 2 forme saillie autour des parois latérales 11 du puits 10 de manière à prolonger ces parois en formant une buse 14. De telles buses sont obtenues par usinage de la face inférieure. La hauteur H d'une telle buse rapportée au côté C, côté de l'orifice 13, mesure le rapport de forme environ égal à 3 dans l'exemple, qui améliore la formation de micro-gouttelettes de volume de l'ordre du picolitre. La valeur du rapport de forme est limitée par des contraintes technologiques et un bon compromis est à rechercher entre 1 et 20, suivant le matériau et la technique de gravure utilisés. Par ailleurs, la distance moyenne entre deux puits est typiquement d'environ 550 μm .

Sur la figure 3, la vue en perspective d'une tête de distribution 1 comporte huit puits 10 reliés individuellement à huit réservoirs 4 par huit micro-canaux 20. Les dimensions typiques d'une telle tête sont :

- longueur : 3mm
- largeur : 5mm
- épaisseur : 1mm selon épaisseur des réservoirs

La vue en coupe représentée en figure 4, selon le plan IV-IV de la figure précédente, montre bien l'indépendance des réservoirs 4 permettant la distribution ou l'aspiration de réactifs différents 5a et 5b.

En variante, les figures 5 et 6 montrent, respectivement en vue cavalière et en coupe selon le plan V-V, une tête de distribution comportant seize puits 10 reliés individuellement à seize réservoirs 4 par seize micro-canaux 20. Une telle configuration est avantageusement utilisée pour distribuer seize réactifs différents.

La face inférieure 2i sensiblement plane du substrat 2 de la tête de distribution des figures 5 et 6, est représentée en vue cavalière sur la figure 7 et en variante sur la figure 8. En figure 7, les parois des puits 10 apparaissent en saillie sous forme de pyramides. Cette forme inclinée des

parois est avantageuse car le réactif ne risque pas de s'accumuler et donc de stagner. Par ailleurs du point de vue hydrodynamique, elle permet un meilleur écoulement avec une répartition des pressions et des vitesses de manière continue. En figure 8, ces mêmes parois 11 apparaissent en transparence
5 sous une forme cylindrique, de diamètre égal à 100 microns, prolongée par un embout centré 6, également cylindrique et de diamètre de 20 microns.

Lorsqu'un seul réactif est distribué ou aspiré simultanément à travers les puits, la configuration de membrane illustrée en figure 9 est avantageusement mise en œuvre. Dans cette configuration, la membrane 3
10 possède une ouverture unique 30 qui permet d'alimenter ou d'aspirer un même réactif sur tous les puits 4 sans l'utilisation de micro-canaux. Ce réactif est transporté depuis ou aspiré vers un réservoir distant (non représenté) à travers un tuyau souple 7 couplé à un micro-capillaire unique 40 traversant la membrane 3.

15 Lorsque plusieurs réactifs sont distribués, par exemple quatre mononucléides A, C, T, G, dans le cas illustré par la vue en perspective de la figure 10, la membrane précédente est cloisonnée par trois traversées 31 de manière à former quatre conduits indépendants 32 d'alimentation ou d'aspiration des réactifs. Ces conduits sont reliés à quatre micro-capillaires 41
20 couplées, à travers la membrane 3 et quatre tuyaux souples 7, à quatre réservoirs distants (non représentés). Une telle configuration est particulièrement adaptée à la distribution des quatre nucléotides de base pour former des sondes 9 pour la préparation de micro-puces sur une lame 82 recouverte d'une couche de silane 83 pour permettre le greffage des premiers
25 nucléides. La lame 82 est supportée par un dispositif de positionnement 86, selon les axes XYZ.

Dans le but de distribuer le ou les réactifs par micro-gouttellettes 50 de manière sélective, c'est-à-dire en sollicitant chaque puits indépendamment les uns des autres, la membrane 3 est sollicitée localement,
30 comme illustré sur la vue en coupe de la figure 11. L'actionnement sélectif des

puits 10 de distribution est provoqué par des moyens déformant localement la membrane 3 par application d'une force \vec{F} .

Sur les vues en coupe des figures 12a et 12b, les deux phases d'actionnement d'un puits 10 par déformation locale de la membrane actionnés par des moyens électromagnétiques de déclenchement sont illustrés. Ces moyens sont formés d'un électroaimant élémentaire 60 composé d'un circuit d'excitation 61 générateur de courant, comprenant notamment une bobine 63 couplée à un noyau d'entrefer 64. Les moyens électromagnétiques comprennent également une pastille aimantée 65 fixée sur la membrane 3 au droit du puits et susceptible d'être polarisée par l'électroaimant. La pastille peut alternativement être un aimant permanent, ou en matériau dia ou paramagnétique.

Lorsque le courant 62 circule, le noyau 63 exerce une force d'attraction \vec{F}_a sur la pastille 65. La membrane 3 est alors déformée vers l'électroaimant et le liquide 51 est stoppé à l'écoulement à travers l'orifice 13 (figure 12a). Lorsque le courant 62 circule dans l'autre sens par inversion des pôles, le noyau 63 exerce une force de répulsion \vec{F}_r sur la pastille aimantée 65. La membrane est déformée en creux et le liquide 51 est expulsé sous forme de micro-gouttelettes 50 à travers l'orifice 13 de la buse d'éjection (figure 12b), avec un volume calibré et contrôlé par les dimensions de la buse ainsi que par l'amplitude et la durée du signal électrique appliqué.

Alternativement, l'éjection de gouttelettes peut se faire par application d'impulsions de courant électrique ou par application d'un courant alternatif à la fréquence de résonance propre de la membrane.

Afin de réaliser une distribution sélective de micro-gouttelettes, c'est-à-dire dont la commande est individualisée au niveau de chaque puits, la déformation locale est réalisée par un ensemble de moyens de déclenchement. Les figures 13a et 13b illustrent en coupe un tel ensemble formé respectivement par des moyens électromagnétiques et des moyens piézoélectriques.

Les moyens électromagnétiques comprennent des électroaimants 60 et des aimants 65, disposés sous forme matricielle au droit de chaque puits 4, et les moyens piézoélectriques comprennent des pastilles piézoélectriques 70, couplées à des circuits d'excitation 61 du même type que ceux utilisés pour les moyens électromagnétiques. Le déclenchement piézoélectrique de micro-gouttelettes 50 (figure 13b) est activé de la même façon que dans le cas de déclenchement électromagnétique (figures 12 et 13a) par fermeture des circuits 61, l'ouverture des interrupteurs 66 arrêtant l'écoulement des gouttelettes 50. Dans le cas de l'utilisation d'actionneurs piézoélectriques, les signaux électriques sont cette fois-ci des différences de potentielles appliquées aux bornes des éléments piézoélectriques.

L'ensemble des moyens de déclenchement est géré par une unité de commande (non représentée) programmable à travers un réseau de couplage ou de multiplexage, dont la mise en œuvre relève du domaine de compétence de l'homme de l'art. Une telle unité permet de déclencher simultanément ou successivement l'aspiration ou la distribution d'un même réactif ou de réactifs différents à travers les puits.

Il est ainsi possible d'obtenir un débit d'éjection de gouttelettes élevé, par exemple 100 gouttelettes par seconde pour un même puits. Il est ainsi possible d'atteindre le débit de 100 000 pour une tête d'impression de 1000 puits, avec une déformation de la membrane contrôlée par le signal extérieure. En effet, le liquide étant quasiment incompressible, le rapport entre les vitesses de déplacement du liquide entre l'ouverture supérieure et l'orifice d'éjection du puits est inversement proportionnel au rapport des surfaces respectives. Dans l'exemple illustré, le rapport des côtés des orifices étant d'environ 15, la vitesse d'éjection des gouttelettes est donc environ 15 fois supérieure à celle de déformation des membranes.

Pour la préparation d'une cartouche de distribution selon l'invention, des réactifs sont aspirés dans une tête de distribution comme illustré sur la vue en coupe de la figure 14. Pour effectuer une telle aspiration, les réactifs sont contenus dans des micro-cuvettes 80 gravées sur une plaque

81 selon des dimensions correspondantes à celle des puits 4. Cette plaque comporte dans l'exemple 9 600 micro-cuvettes espacées de 0,6 mm. Quelques milliers de cuvettes par cm^2 peuvent également être réalisées, alors que les plaques de titration couramment utilisées ne comportent actuellement
5 que 1 à 4 cuvettes par cm^2 .

La plaque est déplacée par réglage micrométrique (direction Z) vers le substrat 2 jusqu'à écraser des joints d'étanchéité en téflon[®] 82 fixés en bordure des micro-cuvettes 80. D'autres matériaux peuvent être alternativement utilisés pour former les joints : en silicone, vuiton[®], en
10 polymère, élastomère ou matériau thermoplastique adapté.

Les réactifs sont alors aspirés dans les puits par le déclenchement d'une pompe 8 montée sur un tuyau d'évacuation 7 couplé aux conduits d'évacuation des puits 4, comme détaillé ci-dessus. La plaquette 81 est également mobile selon les directions XY afin de prévoir d'autres
15 aspirations à partir d'autres micro-cuvettes permettant d'effectuer des mélanges de réactifs dans un même puits. La plaque est placée sur une table de positionnement XYZ (représentée en figure 10).

Suivant les applications, les réactifs peuvent être de type varié : ADNc, oligonucléotides, gènes, cellules, ARNm, protéines, séquences
20 d'ADN ou d'ARN amplifiées par PCR (initiales en terminologie anglaise de « Polymerization Chain Reaction »), antigènes et anticorps, molécules thérapeutiques, sérums, etc.

En vue de la préparation de sondes pour réaliser une biopuce, le dépôt d'oligonucléotides ou de protéines sur une plaquette de
25 Titration ou sur une lame mobile est illustré sur la vue en coupe de la figure 15. Une tête de distribution est alimentée par des réservoirs et l'action de pompes conformément à la figure 10. Des réactifs thérapeutiques différents 52 à 56 sont distribués dans les puits. Des cellules à traiter 15 sont déposées dans les micro-cuvettes d'une plaque de Titration 81. La tête et la plaque sont
30 alignées avec précision à l'aide de repères (non représentés). La plaque de

Titration est réalisée par injection d'un matériau thermoplastique, tel que du polyméthacrylate de méthyle ou un polycarbonate.

Les sondes sont formées à la demande par programmation de l'unité de gestion des actionneurs conjointement avec le déplacement de la
5 lame, ce qui permet de former immédiatement les sondes lors de ce déplacement : la durée de formation des sondes 9 est optimisée, permettant de gagner un temps considérable par rapport à la formation par couches successives de l'état de la technique. Le haut débit obtenu avec le système de distribution selon l'invention permet de réaliser des sondes pouvant atteindre
10 par exemple 60 à 70 nucléotides nécessaires pour les applications en génomique fonctionnelle et expressions de gènes. La plaquette ou la lame est déplacé par réglage micrométrique selon des directions XY pour positionner les orifices des éjecteurs en regard avec les zones à imprimer.

Dans un autre exemple d'application à la détection
15 d'hybridation dans le cadre d'un test génétique, tel qu'illustré en coupe sur la figure 16, la lame 82, préparée selon la figure précédente, est balayée par un flux d'ADN de patient 90. L'ADN du patient est au préalable marqué magnétiquement par greffage de billes 91, utilisé dans l'état de la technique pour immobiliser des molécules dans un champ magnétique ou,
20 alternativement, par fluorescence.

L'avantage supplémentaire de la présente solution est de réutiliser les moyens de déclenchement de distribution pour réaliser la lecture du test par détection, ce qui permet de réduire la quantité de matériel électronique utilisé, alors que, dans l'art antérieur, il est nécessaire de
25 disposer de bobines de lecture dans les cuvettes de titrage.

L'hybridation ou l'interaction immunologique permet de fixer les ADN du patient sur certaines des sondes 9. La détection de ces hybridations est réalisée par formation d'un courant induit dans les circuits 61 au droit des sondes hybridées ou par détection optique. Cette détection est
30 rendue possible du fait de la précision de positionnement des sondes et du

fait, dans le cas d'un marquage magnétique, que ce sont les mêmes circuits 61 qui assurent la distribution des sondes et la détection des hybridations.

Dans l'application iono-phorétique, l'administration percutanée de médicaments est réalisée, en référence à la vue en coupe de la figure 17, à partir d'une tête d'impression à un puits 4 de distribution. Dans ce puits, un médicament est distribué conformément à la méthode exposée ci-dessus. Une tension de quelques millivolts est appliquée par un circuit générateur de tension 61 sur une cellule piézoélectrique 70 afin de déformer la membrane 3. Une quantité précalibrée de médicament 50 pendant une durée donnée peut ainsi être administrée. Deux des parois opposées 11 du puits peuvent également être polarisées afin de faciliter l'absorption du médicament en provoquant la dilatation des pores de la peau.

L'invention n'est pas limitée aux exemples de réalisation décrits et représentés.

Il est par exemple possible de réaliser des configurations de puits, de moyens déclencheurs et cuvettes de Titration autres que matriciels : des configurations de forme circulaire concentrique ou en spirale conviennent également.

Les micro-canaux peuvent également être gravés sur le substrat ou sur la membrane. Il est possible de réaliser la membrane ou le substrat avec une structure multicouche permettant d'intégrer les micro-canaux de manière tri-dimensionnelle dans des couches différentes. Les micro-canaux peuvent alors être couplés aux puits par des connexions perpendiculaires aux ouvertures supérieures des puits.

Par ailleurs, il est possible d'utiliser d'autres techniques pour déclencher la déformation locale de la membrane, par effet bilame utilisant les effets thermoélastiques ou la magnétostriktion : la déformation thermoélastique d'un matériau de type bilame disposé sous forme de barrettes élémentaires au droit des puits sur la membrane. Chaque barrette peut être formée d'une couche de matériau ferromagnétique et d'une couche de matériau conducteur (en Cu, Al, Au, etc.), le matériau ferromagnétique se

déformant sous l'effet d'un champ magnétique produit par l'électroaimant. Il est également possible d'agir par des moyens pneumatiques, par électrovaporisation, ou par l'application de champs électrostatiques.

En outre, les forces de déformation de la membrane ou son échauffement peuvent être créés, par exemple à l'aide de courants de Foucault. La mise en résonance propre peut être effectuée par déformation de la membrane ou par vibration de l'extrémité de la buse.

Par ailleurs, d'autres adaptations sont possibles afin de satisfaire à des applications spécifiques. Par exemple, pour le criblage de cellules tests dans le domaine pharmacologique, en référence à la figure 15, les micro-cuvettes 80 d'une lame de Titration 81 sont équipées d'électrodes polarisées 87. Le test de réactivité des cellules peut être optique, c'est-à-dire par fluorescence et/ou spectroscopie, ou électrique par mesure d'impédance électrique ou électrochimique. Il est également possible d'appliquer, inversement, une différence de potentiel de valeur adaptée entre ces électrodes afin de créer une polarisation dans les cellules et favoriser ainsi l'effet thérapeutique sur des cellules.

Une autre application du système de distribution selon l'invention concerne la distribution de réactifs dans les colonnes de spectrométrie de masse pour la caractérisation de composés, par alimentation parallèle ou séquentielle comme décrit plus haut. Cette application peut également convenir aux chromatographes.

REVENDICATIONS

1. Système de distribution de micro-gouttelettes à haut rendement, comportant un substrat (2) recouvert d'une membrane (3) et des moyens (65, 70) de déformation de la membrane au droit de chaque cavité (10) formée dans le substrat (2), caractérisé en ce que les cavités, gravées dans un matériau constituant le substrat, se présentent sous forme de puits traversant le substrat avec une paroi latérale continue (11) de symétrie axiale, et en ce que chaque puits débouche sur la face supérieure et la face inférieure du substrat selon respectivement un orifice d'alimentation (12) et une buse (14) ouverte selon un orifice d'éjection (13), l'orifice d'alimentation présentant une ouverture supérieure à l'orifice (13) de la buse, et la buse présentant un rapport de forme pouvant aller de 1 à 20.

2. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel la densité de puits atteint $10\ 000/\text{cm}^2$, avec un débit d'au moins un million de gouttelettes à la seconde.

3. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel les puits sont configurés sous forme matriciel, circulaire concentrique, en spirale, ou selon une combinaison de ces configurations.

4. Système de distribution de micro-gouttelettes selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la membrane ou le substrat présente une structure multicouche intégrant les micro-canaux de manière tri-dimensionnelle dans des couches différentes, les micro-canaux étant alors couplés aux puits par des connexions perpendiculaires aux ouvertures supérieures des puits.

5. Système de distribution de micro-gouttelettes selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'ensemble des moyens de déformation est géré par une unité de commande programmable à travers un réseau de multiplexage pour déclencher simultanément ou successivement l'aspiration ou l'éjection de réactifs identiques ou différents à

travers tous les puits, à travers des blocs de puits présélectionnés ou certains puits présélectionnés.

6. Système de distribution de micro-gouttelettes selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le matériau du substrat ou de la membrane est choisi parmi les matériaux semi-conducteurs, le polysilicium, les verres, les nitrures de silicium, les céramiques, les matériaux thermoplastiques, les élastomères, les résines photosensibles épaisses, et les métaux électro-formés ou électro-érodés.

7. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 5 ou 6, dans lequel la gravure du substrat ou de la membrane est choisie parmi la gravure chimique, la RIE, D-RIE, la photolithographie, la gravure par électroérosion ou électroformage, le moulage et la polymérisation, le découpage au laser, les ultrasons, ou la projection d'abrasifs.

8. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 7, dans lequel la membrane est gravée afin de réaliser un réseau de micro-canaux d'alimentation des puits, ces micro-canaux étant couplés en extrémité à au moins un réservoir d'alimentation en réactif.

9. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel les moyens de déformation locale (65, 70) de la membrane (3) sont constitués par des actionneurs électromagnétiques et piézoélectriques, magnétostrictifs, électrostatiques ou par électro-évaporation.

10. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel les forces de déformation de la membrane sont créées par mise en résonance propre de la membrane (3) ou par vibration de l'extrémité des buses (14).

11. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel les puits de chaque ligne d'une configuration matricielle sont alimentés par un même réservoir (4) à travers un micro-canal (20) formé dans la membrane parallèlement à la ligne de puits (10) et couplé latéralement à la ligne ou orthogonalement au plan du substrat (2), les

réservoirs étant gravés dans la membrane ou disposés à distance et reliés aux micro-canaux par des connexions souples.

12. Système de distribution de micro-gouttelettes selon la revendication 1, dans lequel la tête d'impression (1) possède un nombre de
5 lignes égal à un multiple de quatre, afin de procéder à la synthèse de sondes d'ADN à partir des quatre mononucléotides (A, C, T, G) pour la préparation de bio-puces, et dans lequel les puits de chaque ligne sont alimentés par un même réservoir à travers un micro-canal (32) formé dans la membrane (3) parallèlement aux lignes, les réservoirs étant gravés dans la membrane ou
10 disposés à distance et reliés aux micro-canaux par des connexions souples (7).

13. Cartouche de distribution comprenant au moins un système de distribution selon l'une quelconque des revendications précédentes, prérempli de réactifs (51), et des plaquettes de Titration (81)
15 pouvant présenter des micro-cuvettes (80) formées par gravure de type micro-électronique, par usinage, par moulage, et par thermoformage.

14. Kit de distribution comprenant au moins un système de distribution selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, équipée d'au moins une pompe d'aspiration (8), et au moins une plaquette de Titration (81),
20 pouvant être préremplies de réactif.

15. Cartouche selon la revendication 13 ou kit selon la revendication 14, dans lequel la plaquette de Titration présentent des micro-cuvettes équipées d'électrodes polarisées, le test de réactivité des cellules étant optique ou électrique.

25 16. Plaquette de Titration selon la revendication 15, dans laquelle une différence de potentiel est appliquée entre ces électrodes afin de créer une polarisation dans les cellules et favoriser l'effet thérapeutique sur des cellules.

17. Application de la cartouche selon la revendication 13 ou
30 du kit selon la revendication 14 à la préparation de bio-puces, par synthèse in situ ou dépôt d'oligonucléotides pré-synthétisés, au criblage sur molécules

biologiques, chimiques ou sur cellules, à la préparation de médicaments ou aux tests pharmaceutiques ou de dépistages immunologiques, biochimiques ou génétiques.

5 18. Application du système de distribution selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, à l'administration percutanée de médicaments par iono-phorèse comportant un système d'application d'une différence de potentiel adéquate sur une cellule piézoélectrique (70) pour l'administration d'une quantité calibrée d'au moins un médicament contenu ou formé dans au moins un puits.

10 19. Application au criblage de cellules tests dans le domaine pharmacologique d'un système de distribution selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, dans lequel des médicaments sont déposés sur des cellules contenues dans les micro-cuvettes (80) d'une lame de Titration (81), équipées d'électrodes polarisées, le test de réactivité des cellules étant
15 optique ou électrique.

20 20. Application selon la revendication précédente, dans laquelle une différence de potentiel de valeur adaptée est appliquée entre ces électrodes afin de créer une polarisation dans les cellules et favoriser ainsi l'effet thérapeutique sur les cellules.

21 21. Application du système de distribution selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, à la filtration sélective par fixation sur les parois des puits d'une tête d'impression de bio-cellules identiques ou différentes ou de composés biochimiques par puits ou par blocs de puits.

22 22. Application du système de distribution selon la revendication précédente, dans laquelle la tête d'impression est intégrée à
25 l'embout d'une seringue.

23. Application du système de distribution selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, à l'alimentation parallèle ou séquentielle de colonnes de spectromètre de masse ou de chromatographes.

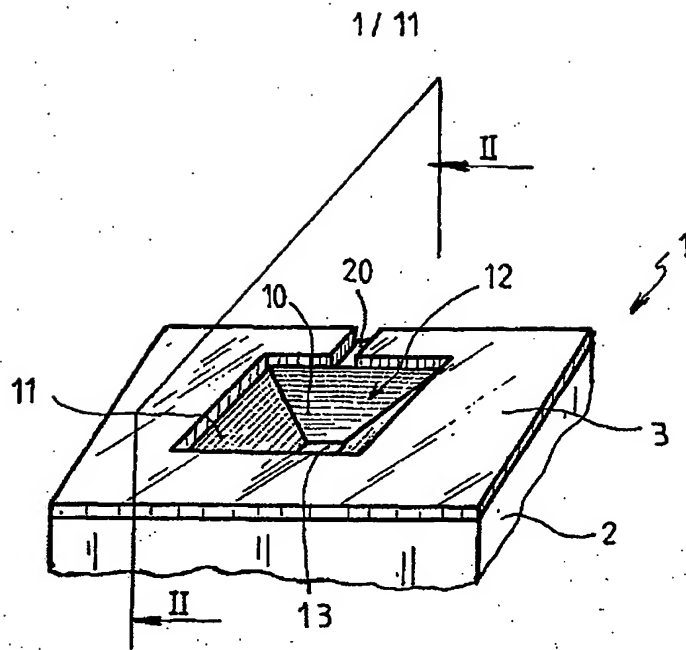


FIG. 1

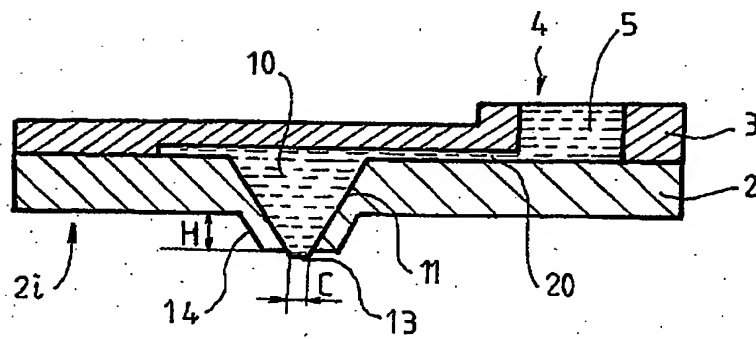


FIG. 2

2/11

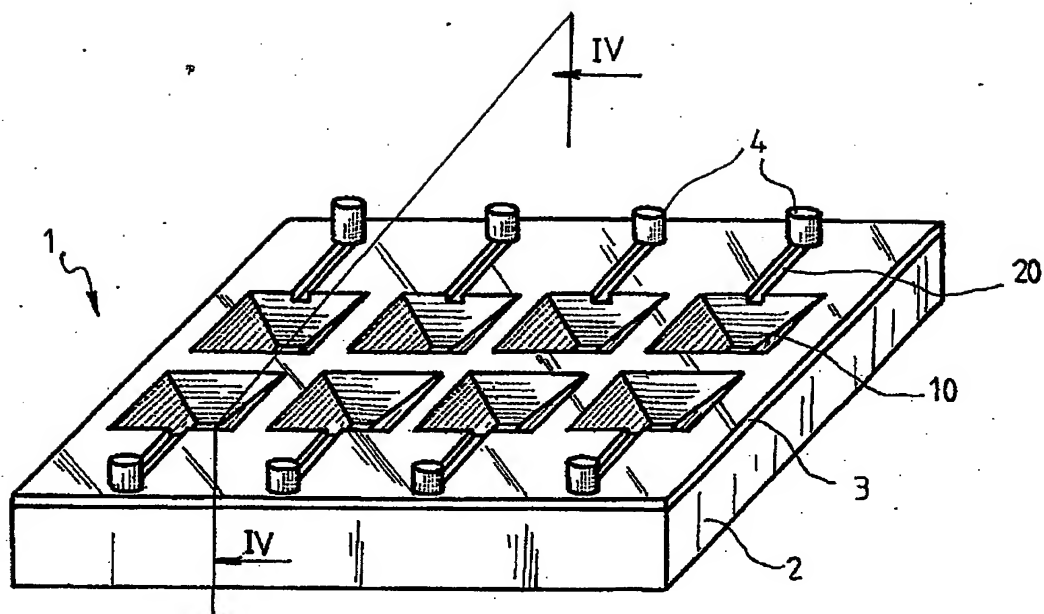


FIG. 3

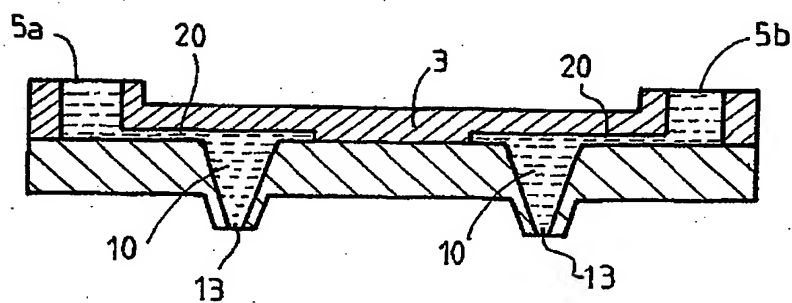


FIG. 4

3 / 11

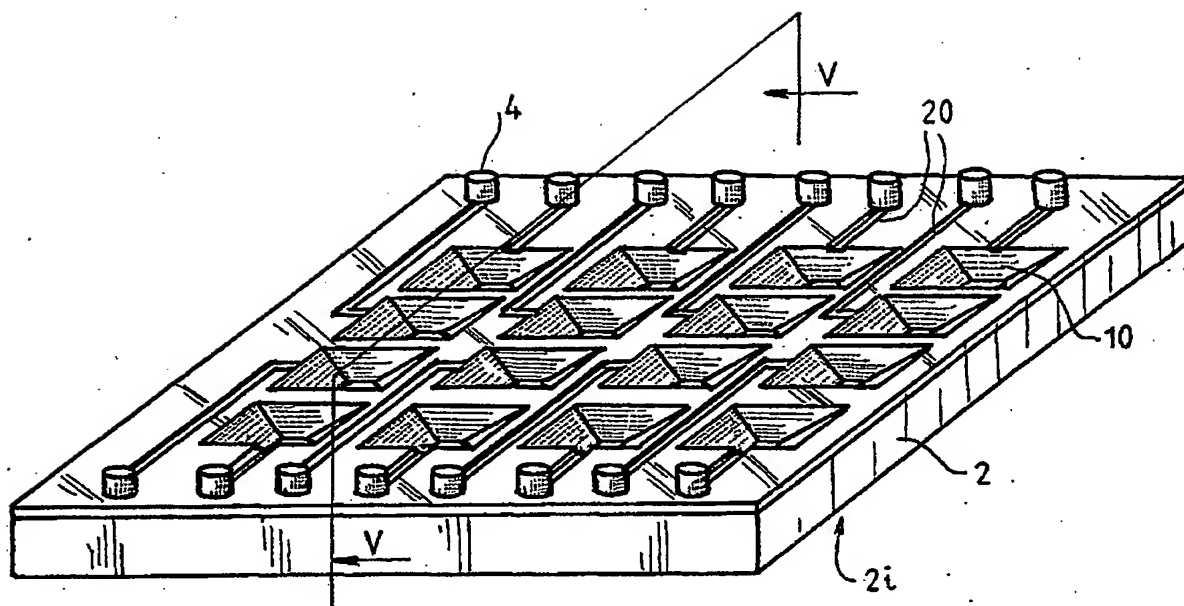


FIG. 5

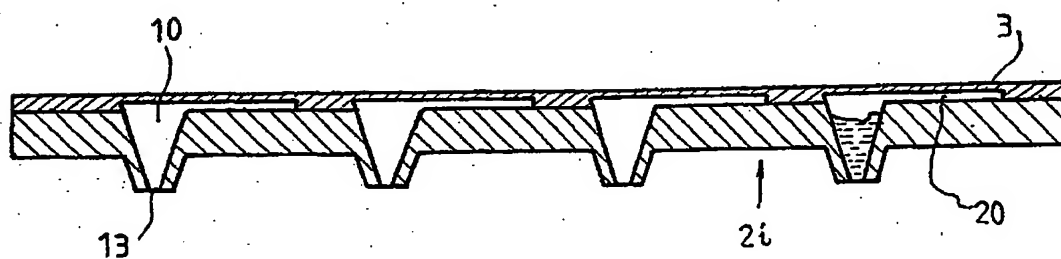


FIG. 6

4 / 11

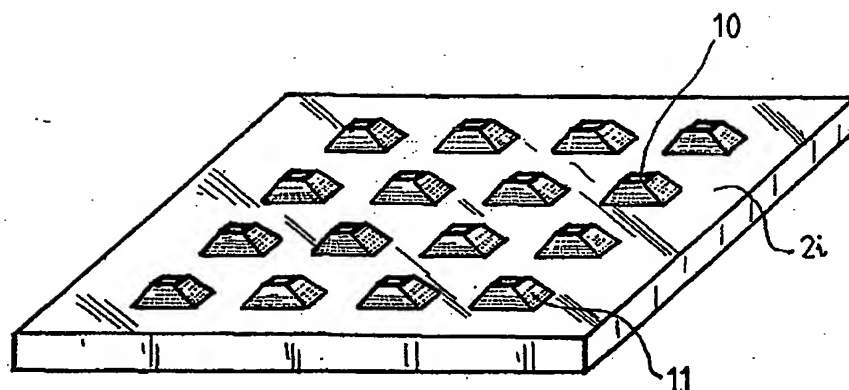


FIG. 7

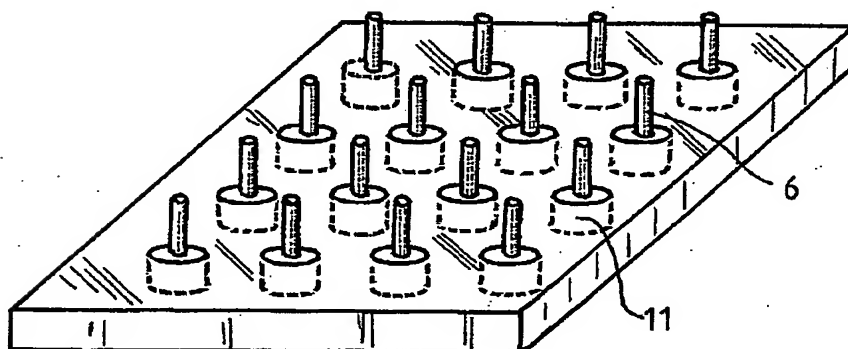


FIG. 8

5 / 11

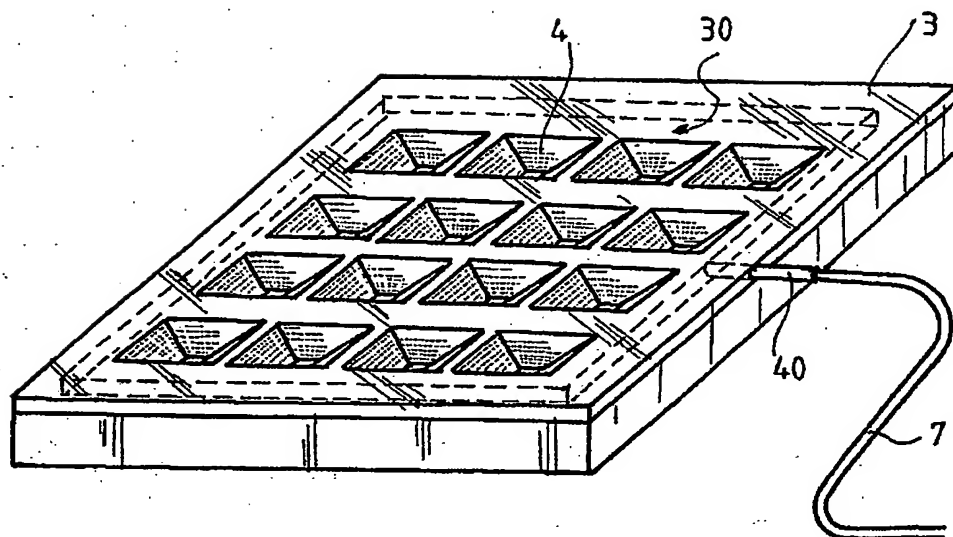


FIG. 9

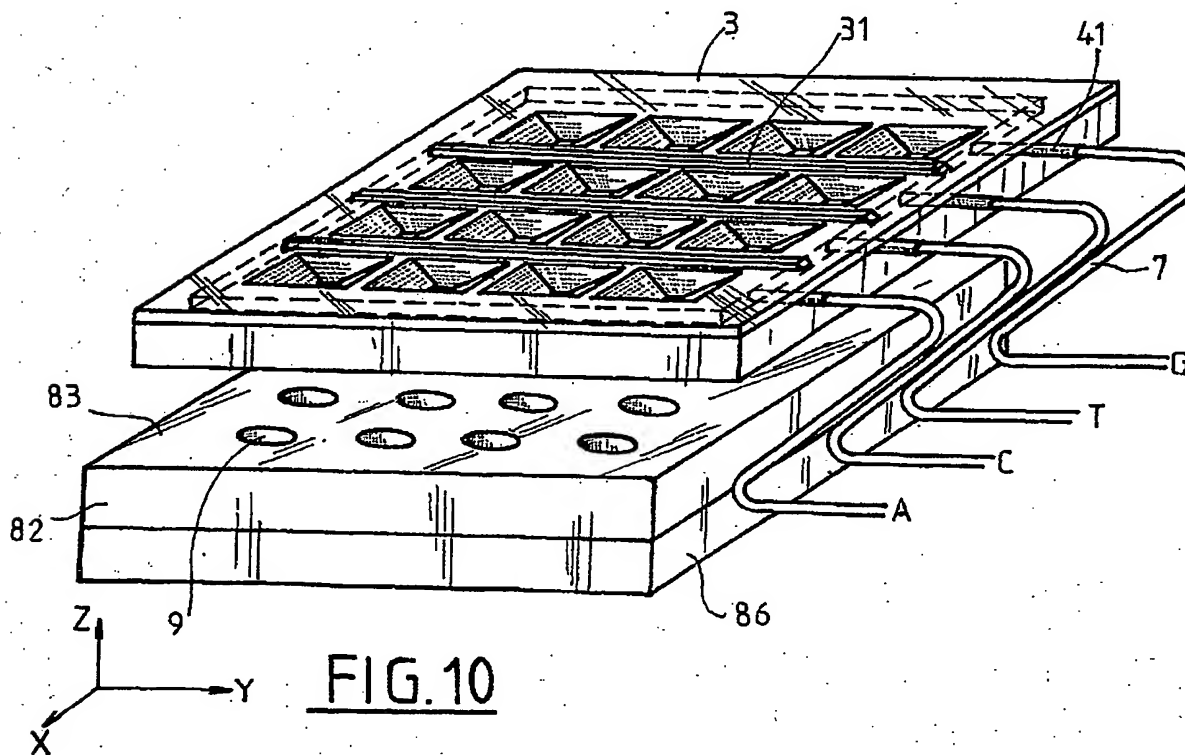


FIG. 10

FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)

6 / 11

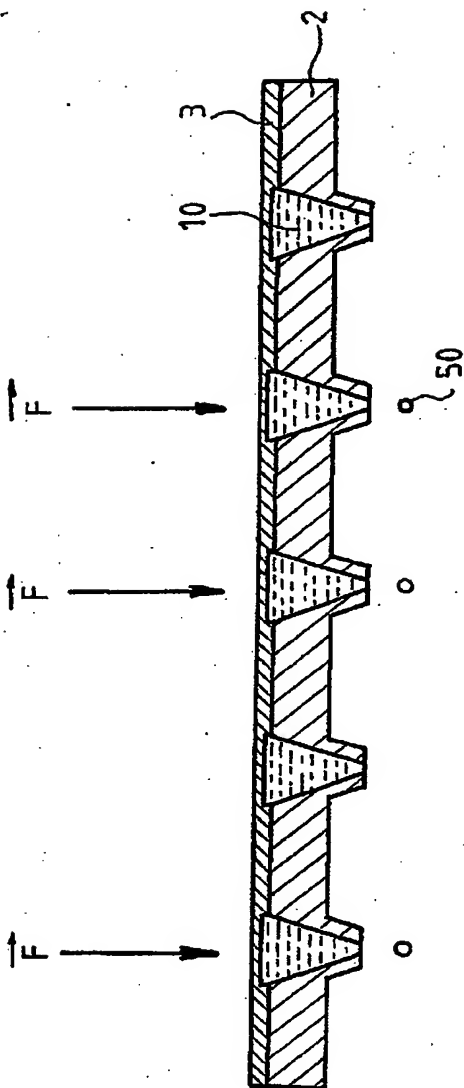


FIG. 11

7/ 11

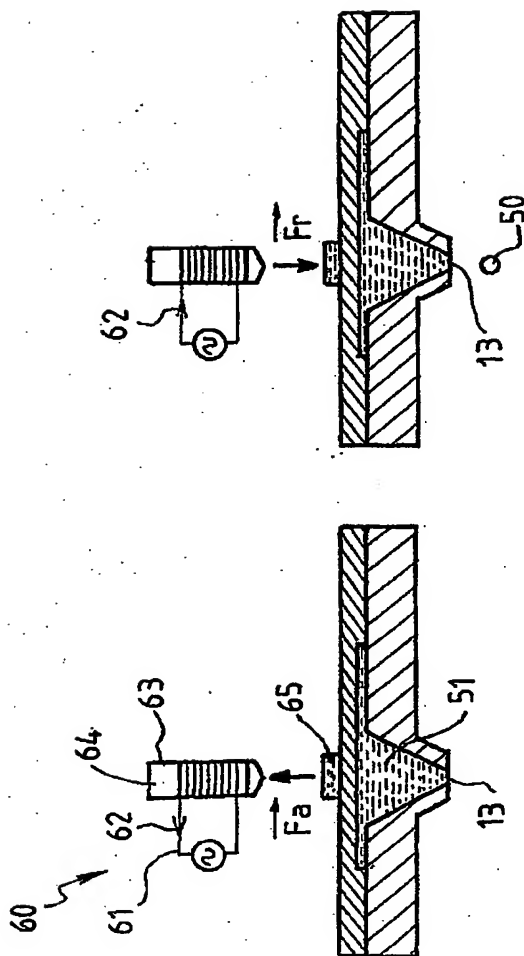


FIG. 12b

FIG. 12a

8/11

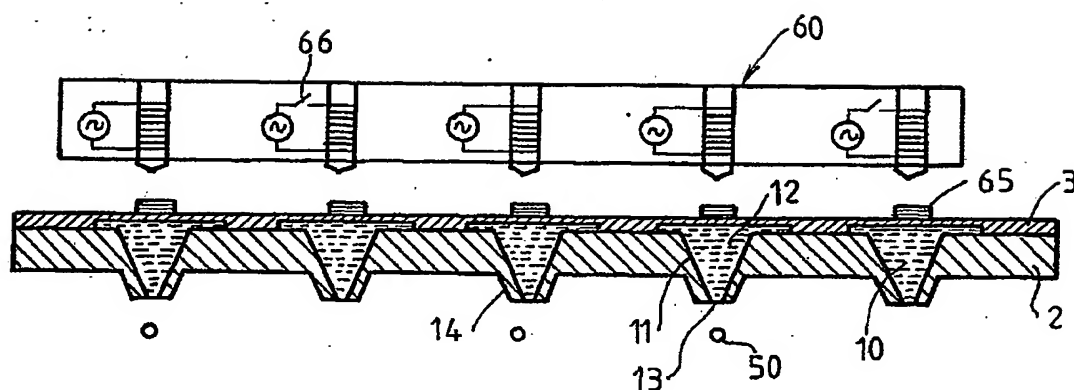


FIG. 13a

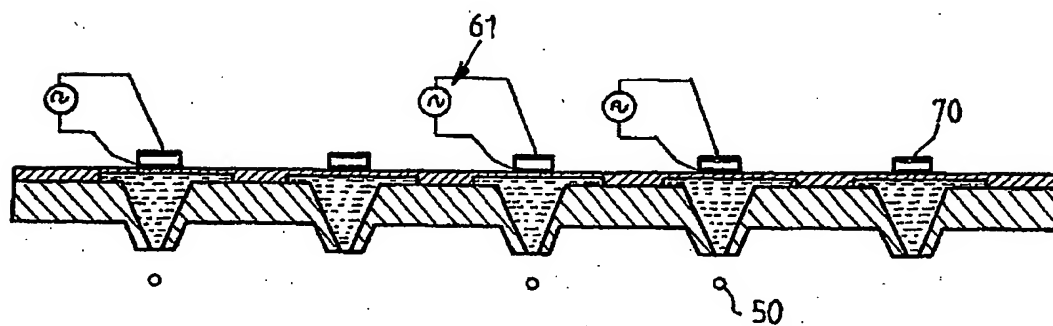


FIG. 13b

9/11

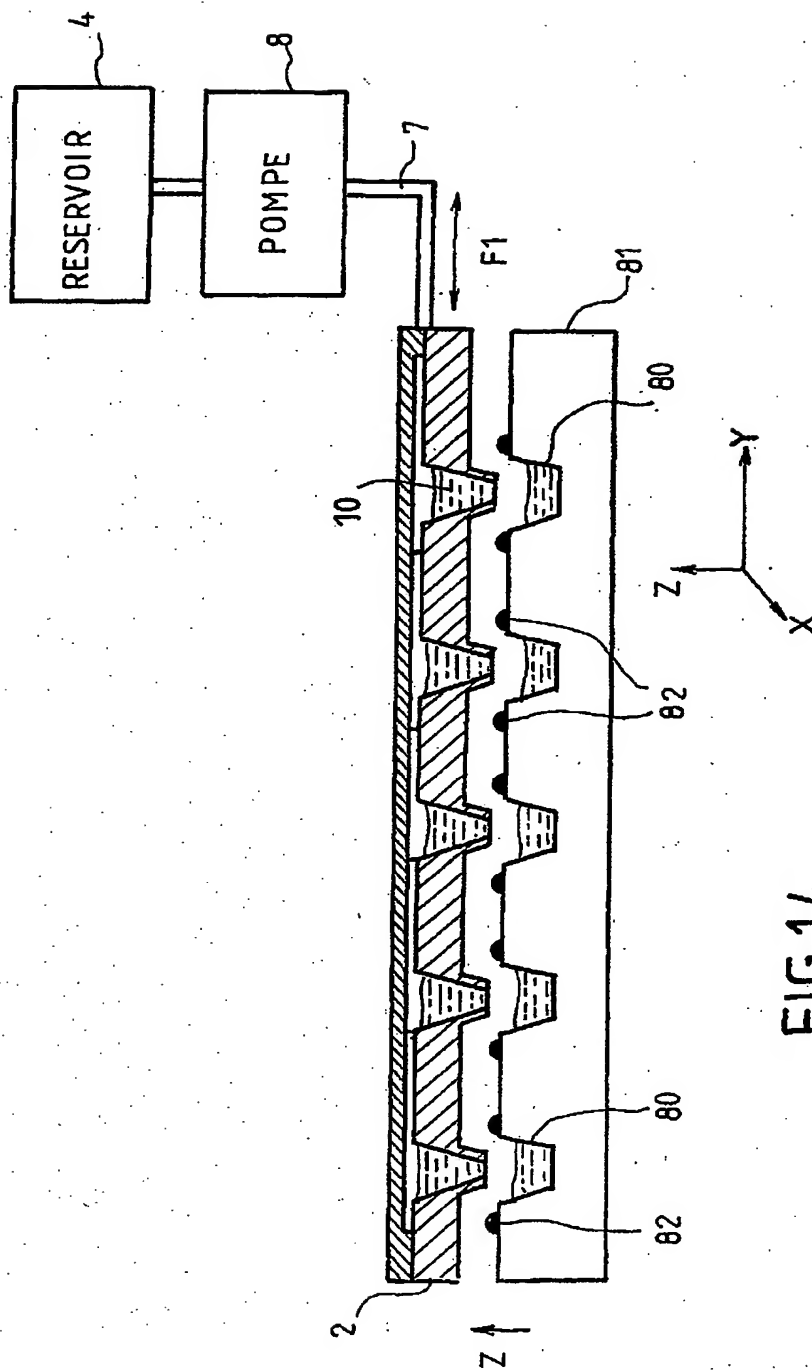


FIG.14

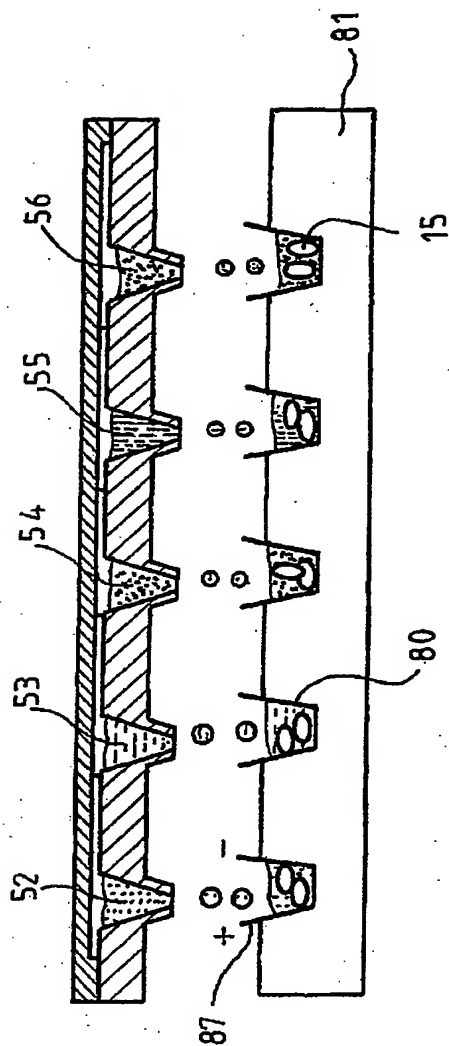


FIG. 15

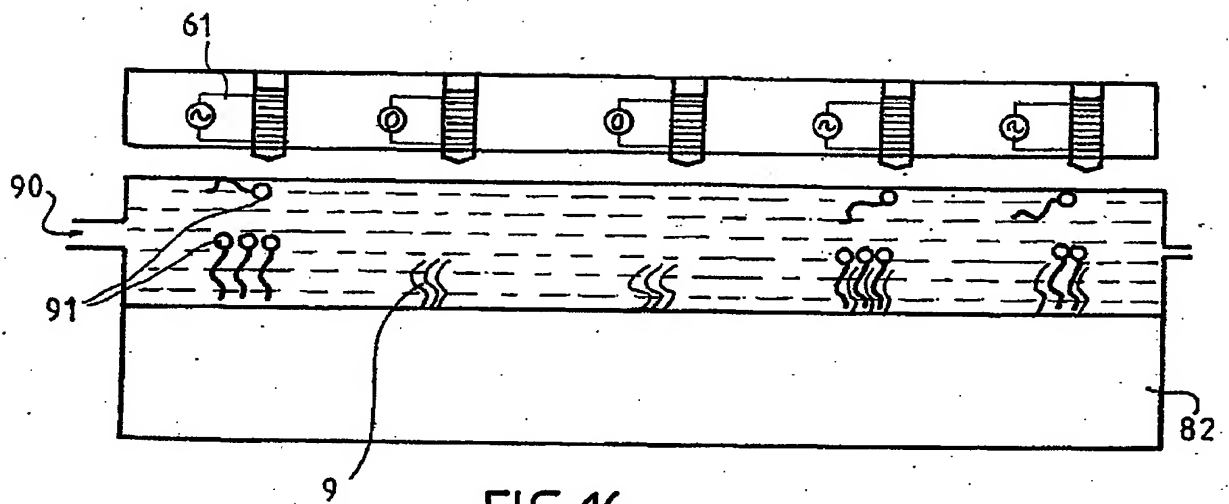


FIG. 16

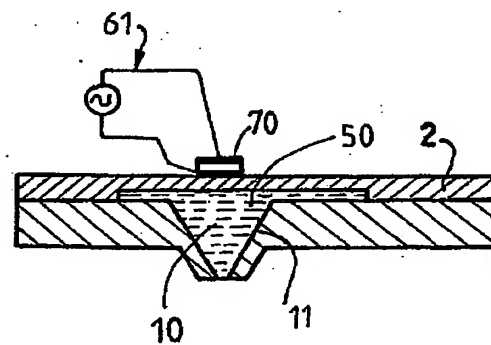


FIG. 17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Inte of Application No
 PC17R 01/01873

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 B01L3/02 B01J19/00 B01L3/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 B01L B01J		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	OENNERFJORD P ET AL: "PICOLITER SAMPLE PREPARATION IN MALDI-TOF MS USING A MICROMACHINED SILICON FLOW-THROUGH DISPENSER" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, vol. 70, no. 22, 15 November 1998 (1998-11-15), pages 4755-4760, XP000799205 ISSN: 0003-2700 page 4557; figure 1	1
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 October 2001		23/10/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Runser, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/FR 01/01873

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BLANCHARD A P ET AL: "HIGH-DENSITY OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 11, no. 6/7, 26 April 1996 (1996-04-26), pages 687-690, XP002052193 ISSN: 0956-5663 page 689; figure 2	1
A	US 4 730 196 A (ROULAUX JAN ET AL) 8 March 1988 (1988-03-08) abstract; figures 1,2 column 1, line 58 -column 3, line 6	1
A	US 4 680 595 A (RAMAN GOPALAN ET AL) 14 July 1987 (1987-07-14) abstract; figures 1-4 column 4, line 60 -column 7, line 27	1

PCT/FR 01/01873

Continuation of Box I.2

Claims nos.: 2-23

Claims 2-23 of the present application concern a very wide variety of devices and uses. In fact, the claims contain so many possible options and permutations that the resulting lack of clarity (and/or of conciseness) as defined by PCT Article 6 is such that it is not possible to carry out any meaningful search on the subject matter of those claims.

Consequently, the search was carried out for the parts of the application which appear to be clear (and/or concise), that is the device of Claim 1 excluding all the other device claims and also excluding all the claims concerning uses.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is advised that the line of conduct adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examination Authority is not to proceed with a preliminary examination of a subject matter in respect of which no search has been carried out. That attitude will remain unchanged, notwithstanding whether or not the claims have been modified, either after the search report has been received, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. nat. Application No.
PCT/FR 01/01873

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4730196	A	08-03-1988	NL 8501881 A	02-02-1987
			EP 0207568 A1	07-01-1987
			JP 62007556 A	14-01-1987
US 4680595	A	14-07-1987	CA 1267563 A1	10-04-1990
			GB 2182611 A ,B	20-05-1987
			JP 62111758 A	22-05-1987
			US 4730197 A	08-03-1988

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De: Internationale No
PCT/R 01/01873

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 B01L3/02 B01J19/00 B01L3/00		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 B01L B01J		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	OENNERFJORD P ET AL: "PICOLITER SAMPLE PREPARATION IN MALDI-TOF MS USING A MICROMACHINED SILICON FLOW-THROUGH DISPENSER" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, vol. 70, no. 22, 15 novembre 1998 (1998-11-15), pages 4755-4760, XP000799205 ISSN: 0003-2700 page 4557; figure 1	1
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div>		
* Catégories spéciales de documents cités:		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>*A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>*E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>*L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>*O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>*P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>*I* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>*X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>*Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
15 octobre 2001		23/10/2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Runser, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De l'Internationale No
PCT/ISA/R 01/01873

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>BLANCHARD A P ET AL: "HIGH-DENSITY OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 11, no. 6/7, 26 avril 1996 (1996-04-26), pages 687-690, XP002052193 ISSN: 0956-5663 page 689; figure 2</p>	1
A	<p>US 4 730 196 A (ROULAUX JAN ET AL) 8 mars 1988 (1988-03-08) abrégé; figures 1,2 colonne 1, ligne 58 -colonne 3, ligne 6</p>	1
A	<p>US 4 680 595 A (RAMAN GOPALAN ET AL) 14 juillet 1987 (1987-07-14) abrégé; figures 1-4 colonne 4, ligne 60 -colonne 7, ligne 27</p>	1

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 2-23

Les revendications 1-23 présentes ont trait à une très grande variété de dispositifs et d'applications. En fait, les revendications contiennent tant d'options et de permutations possibles que le manque de clarté (et/ou de concision) au sens de l'Article 6 PCT qui s'en suit, est d'une importance telle qu'une recherche significative de l'objet des revendications devient impossible.

Par conséquent, la recherche a été effectuée pour les parties de la demande qui apparaissent être claires (et/ou concises), c'est-à-dire le dispositif de la revendication 1 à l'exclusion de toutes les autres revendications de dispositif et à l'exclusion également de toutes les revendications ayant trait aux applications.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs

membres de familles de brevets

Dem

Internationale No

PC1/rR 01/01873

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4730196	A	08-03-1988	NL 8501881 A	02-02-1987
			EP 0207568 A1	07-01-1987
			JP 62007556 A	14-01-1987
US 4680595	A	14-07-1987	CA 1267563 A1	10-04-1990
			GB 2182611 A ,B	20-05-1987
			JP 62111758 A	22-05-1987
			US 4730197 A	08-03-1988

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.